

Perbandingan Toksisitas Supernatan dan Endapan Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (*Melia Azedarach L.*) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes Aegypti L.*

Rachmita Mustika Putri¹, Dwi Wahyuni^{2*}, Kamalia Fikri³

^{1,2,3}Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember
Jl. Kalimantan 32, Jember 68121

Abstract: One of the efforts to replace chemical insecticides to eradicate DBD is to obtain natural larvicides and it's so environmentally friendly. Vegetable insecticides are carried out using a purified extraction process. The purpose of this study was to compare the toxicity of the supernatant and precipitated purified extract of mindi leaf (*Melia Azedarach L.*) on the mortality of *Aedes aegypti L* mosquito larvae. The samples used in this study ranged from 600-700 *Aedes aegypti L* mosquito larvae. This study used a design design. Completely Randomized (CRD) and the Minitab 14 for Windows application help to perform the analysis. The results showed the comparison of the toxicity of the purified extract supernatant of mindi leaf (*Melia azedarach L.*) lower with an LC_{50} value > 1000 while the toxicity of the precipitated purified extract of mindi leaves (*Melia azedarach L.*) higher with LC_{50} value < 1000 . This research can be further tested regarding the magnitude of the toxicity in this study related to the measurement of environmental factors and also related to the KLT test to determine the possibility of new compounds, which are synergistic in the precipitate (fraksi etanol) and supernatant (fraksi n-heksan) in purified mindi leaf extract (*Melia azedarach L.*).

Keywords: *Aedes Aegypti L*, Mindi Leaf Purified Extract, Mosquito Larvae Mortality, Precipitation Toxicity, Supernatant Toxicity.

PENDAHULUAN

Penyakit yang divektori oleh nyamuk adalah Demam Berdarah *Dengue* (DBD) yang divektori oleh nyamuk *Aedes aegypti*. Nyamuk *Aedes aegypti* seringkali disebut sebagai nyamuk rumah karena gemar hidup di dalam rumah, terutama di ruangan rumah yang sejuk, lembab, dan gelap. Jarak terbang dari nyamuk *Aedes aegypti* dapat mencapai 100 meter, itulah mengapa apabila suatu daerah terjangkau DBD, maka akan dilakukan penyemprotan (*fogging*) dengan radius 100 meter (Hendrawan, 2007). Demam Berdarah *Dengue* (DBD) hingga saat ini masih menjadi masalah kesehatan nasional dan sering berstatus kejadian luar biasa (KLB) dengan angka kasus yang cukup tinggi di sejumlah daerah. Kasus DBD tertinggi terdapat di Indonesia dan selalu ada dari tahun ke tahun. Tercatat data kasus tahun 2018 dan tahun 2019 melaporkan bahwa kasus DBD mengalami peningkatan. Sebanyak 65.602 kasus terjadi pada tahun 2018, dan meningkat lagi sebanyak 138.127 kasus (Irawan dan Krisnayella, 2020).

² E-mail: dwiwahyuniwiwik.fkip@unej.ac.id

P-ISSN: 1411-5433

E-ISSN: 2502-2768

© 20XX Saintifika; Jurusan PMIPA, FKIP, Universitas Jember

<http://jurnal.unej.ac.id/index.php/STF>

Beberapa upaya telah dilakukan untuk memberantas kasus Demam Berdarah *Dengue* (DBD), salah satunya dengan menggunakan metode yang sering digunakan dalam penanggulangan nyamuk *Aedes aegypti* adalah dengan menggunakan larvasida abate atau themepos. Dari tahun 1967 hingga saat ini, insektisida kimia masih menjadi pilihan utama dalam upaya pemberantasan sarang nyamuk karena dianggap lebih efektif dan hasilnya dapat dilihat dalam waktu yang relatif cepat (Novera *et al.*, 2017). Namun, insektisida kimia dapat menimbulkan masalah kesehatan, pencemaran lingkungan, dan munculnya resistensi pada nyamuk. Oleh karena itu dibutuhkan upaya untuk mendapatkan larvasida yang alami agar tidak menimbulkan permasalahan serta ramah lingkungan.

Sehubung dengan hal tersebut maka perlu dilakukan suatu usaha untuk mendapatkan larvasida alami. Larvasida alami memiliki keuntungan yaitu degradasi atau penguraian yang cepat oleh sinar matahari, kelembapan, udara sehingga mengurangi resiko pencemaran air dan tanah (Novizan, 2002). Insektisida nabati dilakukan menggunakan proses ekstraksi terpurifikasi. Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan zat atau komponen aktif dari suatu campuran padatan atau cairan yang menggunakan pelarut-pelarut tertentu. Proses ekstraksi ini merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian tanaman (Febrina *et al.*, 2015).

Penggunaan ekstrak terpurifikasi adalah alternatif yang digunakan untuk meminimalkan massa suatu ekstrak dalam tujuan praktis pembuatan sediaan secara farmasetis karena beberapa komponen yang terkandung dapat direduksi dengan proses tersebut. Tujuan dilakukannya proses purifikasi adalah untuk menghilangkan sebagian bahan-bahan yang terkandung di dalam ekstrak yang dipurifikasi dari ekstrak kasar (*crude extract*) untuk menghilangkan suatu komponen pengganggu atau pengotor yang tidak diinginkan dan bertujuan untuk meningkatkan pada konsentrasi senyawa aktif dan mengurangi massa atau volume suatu ekstrak. Pengurangan massa volume suatu ekstrak bertujuan praktis untuk pembuatan sediaan secara farmasetis karena beberapa komponen yang terkandung didalamnya dapat direduksi dengan proses tersebut. Proses purifikasi ini dapat menjaga dalam beberapa kandungan kimia suatu ekstrak yang berefek sinergisme sehingga dapat memaksimalkan proses pengobatan. Komponen aktif akan berada pada lapisan supernatant, sedangkan polisakarida berada dalam massa yang mengendap (tidak larut) (Januari *et al.*, 2019).

Proses purifikasi ini dapat menghilangkan zat-zat ballast seperti klorofil yang bersifat non polar, sehingga dapat mempengaruhi aktivitas biologis dan tetap mempertahankan senyawa aktifnya, oleh karena itu diperlukan proses purifikasi (Januarti *et al.*, 2019). Ekstrak terpurifikasi mempunyai kelebihan, hasil pada ekstrak terpurifikasi lebih murni, terbebas dari zat ballast dan senyawa metabolit sekunder yang lebih besar dan kemurniannya lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak biasa.

Salah satu tumbuhan yang banyak mengandung senyawa aktif adalah daun mindi. Kandungan kimia yang terdapat didalam daun mindi adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroida. Pada penelitian sebelumnya oleh Khayyunida (2014), pada granula daun mindi (*Melia azedarach* L.) dinyatakan bersifat insektisida, karena menghasilkan metabolit sekunder yaitu tritepenoid dan flavonoid. Efek kandungan dari senyawa tripenoid dapat menghambat reseptor perasa di daerah mulut larva, sedangkan efek dari senyawa flavonoid berperan sebagai racun pernafasan. Perbandingan toksisitas supernatan dan endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia Azedarach* L.) pada nyamuk *Aedes aegypti* belum pernah dilakukan sebelumnya, tujuan dilakukannya perbedaan ini untuk mengetahui hasil yang lebih optimal terhadap jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati. Sehingga berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui perbandingan dari toksisitas supernatan dan endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia Azedarach* L.) terhadap larva nyamuk *Aedes Aegypti* L.

METODE PENELITIAN

Penelitian tentang perbandingan toksisitas supernatant dan endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* termasuk dalam jenis penelitian eksperimental laboratoris. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini akan dilaksanakan di Sub Laboratorium Toksikologi Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari sampai Mei 2021.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, saringan, gelas ukur, wadah kaca, batang pengaduk, rotary evaporator, cawan, sendok, corong kaca, oven, beaker glass, pemanas, spatula, timbangan analitik, pipet tetes, botol kaca, aluminium foil, kertas label, kaca benda, shaker, gelas plastik, kain kasa, bak plastik, mikroskop, kamera,

kaca penutup, mortal, dan pistil, lemari es (kulkas). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mindi (*Melia Azedarach L.*), kertas saring, air, larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III akhir dan IV awal, etanol 96%, n-heksan dan abate. Air digunakan sebagai habitat larva saat proses pengujian sekaligus sebagai kontrol negatif. Sedangkan abate digunakan sebagai kontrol positif dan instrument buku referensi.

Persiapan Larva Uji

Larva *Aedes egypti* diperoleh dari Laboratorium Entomologi. Larva diletakkan pada nampan dengan aquades. Pemberian makan pada larva dengan pellet ikan yang sudah dihaluskan. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk mengetahui proses pergantian kulit. Pemilihan larva instar III dan IV awal yang siap digunakan sebagai larva uji. Larva uji yang digunakan adalah larva sehat dengan gerakan yang lincah dan homogen pada larva instar III dan IV.

Ekstraksi Daun Mindi (*Melia azedarach L.*)

Mengumpulkan daun mindi sesuai kriteria dengan daun yang bagus dan tidak terkena hama. Mencacah daun mindi menjadi ukuran kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Mengeringanginkan daun mindi sampai tidak terjadi penurunan berat pada daun. Menghaluskan daun mindi dan yang sudah kering menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Menimbang serbuk daun mindi dengan berat yang sama. Menambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:5. Mengaduk hingga homogen lalu ditutup dengan aluminium foil. Membiarkan campuran ekstrak larutan selama 3x24 jam dan diaduk secara berkala (Manurung *et al.*, 2020). Menyaring ekstrak hasil maserasi dengan corong yang dialasi dengan kertas saring. Hasil penyaringan selanjutnya diuapkan menggunakan alat rotary evaporator untuk mendapat ekstrak kental. Mengatur suhu 50°C dan 90 RPM dan menunggu selama 3 jam untuk menguapkan etanol 96% yang telah digunakan pada tahap sebelumnya. Ekstrak yang telah berhasil dibuat dipindahkan dalam gelas ekstrak dan dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan di dalam lemari es agar tetap dalam kondisi baik.

Purifikasi Ekstrak Kental Daun Mindi (*Melia azedarach L.*)

Proses purifikasi diawali dengan menimbang ekstrak kental hasil dari tahap pembuatan ekstrak kasar daun mindi (*Melia Azedarach L.*) Langkah yang pertama menimbang ekstrak kental hasil tahap pembuatan ekstrak sebelumnya. Kemudian ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:10, setelah itu memasukkan ke dalam

corong pisah. Menambahkan n-heksan sebanyak 1:1 ke dalam corong pisah setelah itu dilakukan penggojokan selama kurang lebih 1 menit, kemudian diamkan hingga membentuk 2 lapisan yang terpisah (Mulangsari dan Zulfa, 2020). Lapisan n-heksan yang terbentuk dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam beaker glass. Cara tersebut dilakukan berulang kali sampai mendapatkan warna bening kemudian memekatkan kembali ekstrak dengan menggunakan oven.

Tahap Uji Pendahuluan

Tahap uji pendahuluan dilakukan untuk memperoleh konsentrasi supernatan dan endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia Azedarach* L.) yang dapat membunuh larva *Aedes aegypti* L. sebesar 5% dan 95% dari jumlah uji. Langkah yang pertama dengan mengisi 7 gelas plastik dengan air sebanyak 100 ml, menambahkan supernatan maupun endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia Azedarach* L.) menggunakan serial konsentrasi yang mampu membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Sebesar 5% dan 95%, memasukkan 20 larva uji instar III sampai IV awal secara perlahan ke dalam masing-masing gelas plastik menggunakan pipet, kemudian ditutup menggunakan kasa kemudian melakukan pengamatan terhadap jumlah larva uji yang mati dalam kurun waktu 24 jam dengan cara menyentuh batang lidi lentur pada larva uji dan diamati pergerakannya setelah itu mencatat jumlah mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.

Tahap Uji Akhir

Serial konsentrasi yang digunakan pada uji akhir ditentukan berdasarkan hasil dari uji pendahuluan. Data yang didapat dari uji akhir inilah yang akan dianalisis. Jumlah larva yang digunakan pada uji akhir sama dengan jumlah larva yang digunakan pada uji pendahuluan, yakni 20 ekor larva pada setiap konsentrasi. Pada uji akhir dilakukan 4 pengulangan pada masing-masing serial konsentrasi. Selain itu, terdapat kontrol positif menggunakan abate dan kontrol negatif menggunakan air tanpa campuran apapun. Setelah pengujian akhir selesai dan nilai LC_{50} dari supernatan dan endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia Azedarach* L.) telah diketahui, selanjutnya dilakukan menganalisis besar toksik antara supernatan daun mindi (*Melia Azedarach* L.) dan endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia Azedarach* L.). Langkah-langkah pada tahap pengujian akhir adalah sebagai berikut mengisi 56 gelas plastik dengan air sebanyak 100 ml, menambahkan supernatan dan endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia Azedarach* L.) menggunakan serial konsentrasi. Selain itu ditambah dengan kontrol

positif dan kontrol negatif sebagai perbandingan. Kontrol positif menggunakan abate, sedangkan kontrol negatif menggunakan aquades. Memasukkan dua puluh ekor larva uji ke dalam masing-masing gelas menggunakan pipet dan menutup dengan kasa kemudian melakukan pengamatan terhadap mortalitas larva uji selama 24 jam. Mencatat jumlah mortalitas larva uji dan menentukan besarnya nilai LC_{50} menggunakan analisis probit setelah itu membandingkan hasil dari toksisitas supernatan dan endapan ekstrak purifikasi yang didapatkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

1. Toksisitas (LC_{50}) Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) Supernatan (Fraksi n-heksan) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam

Uji akhir ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) fraksi n - heksan (supernatan) ini menggunakan serial konsentrasi 400 ppm, 1000 ppm, 1600 ppm, 2200 ppm, 2800 ppm berdasarkan hasil uji pendahuluan. Larva uji yang digunakan sebanyak 20 ekor dalam waktu dedah 24 jam.

Tabel 1. Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. pada Uji Akhir Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) Supernatan (Fraksi n-heksan) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam

| Konsentrasi (ppm) | Jumlah Kematian Larva | | | | |
|-------------------|-----------------------|----|----|----|-------------|
| | Ulangan | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| 400 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0,25±0,5 |
| 1000 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3,75±0,5 |
| 1600 | 6 | 7 | 6 | 7 | 6,5±0,57735 |
| 2200 | 10 | 14 | 13 | 11 | 12±1,825742 |
| 2800 | 19 | 20 | 19 | 19 | 19,25±0,5 |
| Kontrol (-) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0±0 |
| Kontrol (+) | 20 | 20 | 20 | 20 | 20±0 |

Berdasarkan Tabel 1. menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) fraksi n-heksan (supernatan) maka semakin tinggi pula rerata persentase mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.. Mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. terendah yaitu konsentrasi 400 ppm dengan rerata dan standar deviasi sebesar 0,25±0,5, sedangkan mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. tertinggi yaitu pada konsentrasi 2800 ppm dengan rerata dan standar deviasi 19,25±0,5.

Tabel 2. Analisis Probit LC_{50} Toksisitas Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) fraksi n - heksan (supernatan) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam

| <i>Lethal Concentration</i> (LC_{50}) | LC_{50} (ppm) | Batas Bawah (ppm) | Batas Atas (ppm) |
|--|--------------------|----------------------|---------------------|
| Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (<i>Melia azedarach</i> L.) fraksi n - heksan (supernatan) | 1820,85 | 1696,72 | 1935,80 |

Berdasarkan hasil dari analisis probit pada Tabel 2. dapat diketahui bahwa konsentrasi ekstrak terpurifikasi daun mindi fraksi n-heksan (supernatan) yang dibutuhkan untuk mematikan larva 50% larva uji dalam waktu dedah 24 jam adalah 1820,85 ppm dengan batas bawah 1696,72 ppm dan batas atas 1935,80 ppm. Batas bawah (*lower concentration*) merupakan konsentrasi terendah dari suatu ekstrak terpurifikasi yang dapat mematikan 50% larva uji dalam waktu dedah 24 jam. Batas atas (*upper concentration*) merupakan konsentrasi tertinggi dari suatu ekstrak terpurifikasi yang dapat mematikan 50% larva uji dalam waktu dedah 24 jam.

2. Toksisitas (LC_{50}) Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) Endapan (Fraksi etanol) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam.

Uji akhir ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) fraksi etanol (endapan) ini menggunakan serial konsentrasi 100 ppm, 550 ppm, 1000 ppm, 1450 ppm, 1900 ppm berdasarkan hasil uji pendahuluan. Larva uji yang digunakan sebanyak 20 ekor dalam waktu dedah 24 jam.

Tabel 3. Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. pada Uji Akhir Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) Endapan (Fraksi etanol) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam

| Konsentrasi (ppm) | <u>Jumlah Kematian Larva</u> | | | | Rerata±SD |
|-------------------|------------------------------|----|----|----|----------------|
| | Ulangan | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| 100 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0,25±0,5 |
| 550 | 6 | 5 | 4 | 6 | 5,25±0,957427 |
| 1000 | 10 | 10 | 9 | 10 | 9,75±0,5 |
| 1450 | 15 | 14 | 13 | 15 | 14,25±0,957427 |
| 1900 | 19 | 20 | 20 | 19 | 19,5±0,57735 |
| Kontrol (-) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0±0 |
| Kontrol (+) | 20 | 20 | 20 | 20 | 20±0 |

Berdasarkan Tabel 4. menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) fraksi etanol (supernatan) maka semakin tinggi pula rerata persentase mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.. Mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. terendah yaitu konsentrasi 100 ppm dengan rerata dan standar

deviasi sebesar $0,25 \pm 0,5$, sedangkan mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. tertinggi yaitu pada konsentrasi 1900 ppm dengan rerata dan standar deviasi $19,5 \pm 0,57735$.

Tabel 5. Analisis Probit LC_{50} Toksisitas Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) fraksi etanol (endapan) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam

| <i>Lethal Concentration</i> (LC_{50}) | LC_{50} (ppm) | Batas Bawah (ppm) | Batas Atas (ppm) |
|---|--------------------|----------------------|------------------|
| Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (<i>Melia azedarach</i> L.) fraksi etanol (endapan) | 956,284 | 854,753 | 1046,25 |

Berdasarkan hasil dari analisis probit pada Tabel 5. dapat diketahui bahwa konsentrasi ekstrak terpurifikasi daun mindi fraksi etanol (endapan) yang dibutuhkan untuk mematikan larva 50% larva uji dalam waktu dedah 24 jam adalah 956,284 ppm dengan batas bawah 854,753 ppm dan batas atas 1046,25 ppm. Batas bawah (*lower concentration*) merupakan konsentrasi terendah dari suatu ekstrak terpurifikasi yang dapat mematikan 50% larva uji dalam waktu dedah 24 jam. Batas atas (*upper concentration*) merupakan konsentrasi tertinggi dari suatu ekstrak terpurifikasi yang dapat mematikan 50% larva uji dalam waktu dedah 24 jam.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan hasil analisis probit, LC_{50} supernatan (fraksi n-heksan) yaitu 1820,85 ppm sedangkan pada LC_{50} endapan (fraksi etanol) ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.). berdasarkan hasil analisis probit 956,284 ppm. Hasil uji ini menunjukkan bahwa endapan (fraksi etanol) lebih toksik dibandingkan dengan supernatan (fraksi n-heksan). Kematian larva disebabkan adanya kandungan senyawa yang bersifat toksik.

1. (LC_{50}) Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) Supernatan (Fraksi n-heksan) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L.

Penelitian uji toksisitas ekstrak terpurifikasi daun mindi terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. menunjukkan adanya kematian. Berdasarkan Tabel 1. menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi supernatan (fraksi n- heksan) ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) maka semakin tinggi rerata mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.. Kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. terendah yaitu pada konsentrasi 200 ppm dengan rerata mortalitas 5%, sedangkan kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. tertinggi yaitu pada konsentrasi 2800 ppm dengan rerata mortalitas 95%. Pada kontrol negatif menggunakan aquades tidak menyebabkan kematian dengan rerata mortalitas 0%, sedangkan pada kontrol negatif menggunakan abate menyebabkan kematian dengan rerata mortalitas 100% dalam waktu dedah 24 jam.

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui besarnya toksisitas LC₅, LC₅₀ dan LC₉₅ ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) supernatan (fraksi n-heksan) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*. LC₅ dan LC₉₅ diperoleh dari hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan, LC₅ sebesar 400 ppm dan LC₉₅ sebesar 2800 ppm pada supernatant (fraksi n-heksan). Sedangkan LC₅₀ diperoleh dari hasil analisis probit, berdasarkan hasil penelitian dan analisis data diperoleh LC₅₀ sebesar 1820,85 ppm.

Menurut Triana, (2015) hasil skrining fitokimia yang digunakan untuk menentukan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada supernatan (fraksi n-heksan) pada daun mindi (*Melia azedarach* L.) mengandung senyawa non polar yaitu senyawa triterpenoid. Mekanisme kerja senyawa triterpenoid yang dapat menyebabkan mortalitas pada larva *Aedes aegypti* karena bekerja sebagai antifeedant. Antifeedant merupakan senyawa kimia yang bersifat menghambat aktivitas makan larva, akan tetapi tidak bersifat membunuh, mengusir, atau menjerat serangga secara langsung. Senyawa antifeedant hanya menghambat nafsu makan (*feeding inhibition*) pada serangga. Senyawa antifeedant bersifat *suppressant* (menekan aktivitas menggigit) dan *deterrent* (mencegah serangga terus makan) (Dono *et al.*, 2010). Sehingga dengan demikian *antifeedant* akan menyebabkan larva mati karena larva tidak dapat makan sehingga asupan nutrisi dalam tubuh larva tidak terpenuhi.

2. Toksisitas (LC₅₀) Ekstrak Terpurifikasi Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) Endapan (Fraksi etanol) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.

Penelitian uji toksisitas ekstrak terpurifikasi daun mindi terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. menunjukkan adanya kematian. Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi endapan (fraksi etanol) ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) maka semakin tinggi rerata mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. terendah yaitu pada konsentrasi 100 ppm dengan rerata mortalitas 5%, sedangkan kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. tertinggi yaitu pada konsentrasi 1900 ppm dengan rerata mortalitas 95%. Pada kontrol negatif menggunakan aquades tidak menyebabkan kematian dengan rerata mortalitas 0%, sedangkan pada kontrol negatif menggunakan abate menyebabkan kematian dengan rerata mortalitas 100% dalam waktu dedah 24 jam.

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui besarnya toksisitas LC₅, LC₅₀ dan LC₉₅ ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) endapan (fraksi

etanol) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*. LC₅ dan LC₉₅ diperoleh dari hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan, LC₅ sebesar 100 ppm dan LC₉₅ sebesar 1900 ppm pada endapan (fraksi etanol). Sedangkan LC₅₀ diperoleh dari hasil analisis probit, berdasarkan hasil penelitian dan analisis data diperoleh LC₅₀ sebesar 956,284 ppm.

Kepolaran pada suatu zat dalam pelarut saat ekstraksi, senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar seperti air dan etanol. Menurut Triana (2015) ekstrak etanol yang dilakukan fraksinasi (ekstraksi cair-cair) menggunakan pelarut n-heksana dan air. Hasil skrining fitokimia yang digunakan untuk menentukan senyawa pada daun mindi (*Melia azedarach* L.) endapan (fraksi etanol) mengandung senyawa polar yaitu flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin. Mekanisme kerja senyawa flavonoid dapat mempengaruhi kerja sistem pernapasan larva atau sebagai racun pernapasan. Flavonoid akan masuk ke dalam tubuh larva melalui *siphon* yang berada dipermukaan air dan menyebabkan melemahnya syaraf serta menyebabkan kerusakan pada *siphon* yang akibatnya larva tidak mampu bernapas kemudian mati (Hapsari, 2012). Menurut Taufiq *et al.*, (2015) mekanisme kerja flavonoid sebagai larvasida dibagi menjadi tiga yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh larva.

Senyawa alkaloid (*carpaine*) sebagai larvasida bertindak sebagai racun perut dan racun kontak. Alkaloid masuk dalam tubuh larva melalui absorpsi dan mendegradasi membran sel kulit kemudian masuk ke dalam untuk merusak sel serta mengganggu kerja saraf larva dengan menghambat kerja enzim asetilkolinesterase yang memecah neurotransmitter asetikolin menjadi asetil Ko-A dan kolin sehingga larva menjadi kering, lumpuh, bahkan mati. Mekanisme kerja senyawa alkaloid dengan cara menghambat enzim asetilkolinesterase atau jembatan natrium yang sangat berperan penting dalam sistem syaraf dan juga bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut apabila senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva maka alat pencernaannya akan rusak sehingga larva mengalami kematian. Alkaloid juga mendegradasi membran sel untuk masuk ke dalam dan merusak sel. Terjadinya perubahan warna pada tubuh larva mejadi transparan dan gerakan tubuh larva yang menghambat apabila dirangsang dengan sentuhan srta selalu membengkokkan badan juga disebabkan oleh senyawa alkaloid (Nadila *et al.*, 2017).

Saponin merupakan racun yang masuk melalui saluran pencernaan larva. Saponin

bekerja dengan cara menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa larva yang nantinya dapat menyebabkan rusaknya saluran pencernaan larva sehingga dapat mempengaruhi pemenuhan nutrisi larva. Saponin juga dapat menurunkan tegangan permukaan kulit larva serta mampu mengikat sterol bebas dalam pencernaan makanan. Sehingga dengan menurunnya persediaan sterol akan mengganggu proses pergantian kulit pada larva (Siahaya dan Rumthe, 2014). Senyawa saponin bekerja sebagai racun perut yang masuk melalui mulut (sistem pencernaan) dan meracuni larva. Saponin juga berpengaruh sebagai racun kontak yang terlihat pada gangguan fisik larva pada bagian luar (kutikula), yaitu menghilangkan lapisan lilin yang melindungi tubuh larva dan menyebabkan kematian karena kehilangan banyak cairan tubuh (Haditomo, 2010). Mekanisme kerja saponin menurut Taufiq *et al.*, (2015) yaitu dengan cara mendenaturasi protein dan enzim di dalam membran luar dan dinding sel yang rentan, kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan cairan sitoplasma keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel.

Tanin memiliki efek yang akan menyebabkan penurunan aktivitas enzim protease dalam mengubah asam amino. Proses metabolisme sel pada larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dapat terganggu, sehingga larva akan kekurangan nutrisi. Selain itu, senyawa ini juga dapat mengikat protein dalam sistem pencernaan yang dibutuhkan larva untuk pertumbuhan (Kumara *et al.*, 2021).

Penelitian uji perbandingan toksisitas supernatan dan endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. menunjukkan bahwa endapan (fraksi etanol) lebih toksik dibandingkan dengan supernatant (fraksi n-heksan). Hal ini disebabkan adanya beberapa senyawa aktif yang terdapat pada endapan (fraksi etanol) yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan juga tannin dan juga bisa terjadi adanya senyawa baru yang terdapat pada endapan (fraksi etanol).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa besarnya LC_{50} supernatan (fraksi n-heksan) pada ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam adalah 1820,85 ppm sedangkan besarnya LC_{50} endapan (fraksi etanol) pada ekstrak terpurifikasi daun mindi

(*Melia azedarach* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. dalam waktu dedah 24 jam adalah 956,284 ppm. Perbandingan toksisitas supernatant ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L). lebih rendah dengan nilai $LC_{50} > 1000$ sedangkan toksisitas endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi (*Melia azedarach* L). lebih tinggi dengan nilai $LC_{50} < 1000$.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh faktor lingkungan terhadap toksisitas supernatant dan endapan ekstrak terpurifikasi daun mindi terhadap nyamuk *Aedes aegypti* L. Penelitian selanjutnya dapat dengan melakukan pengukuran faktor lingkungan seperti suhu kelembaban, dan juga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terkait Uji KLT untuk mengetahui kandungan senyawa aktif secara pasti pada endapan (fraksi etanol) dan supernatant (fraksi n-heksan).

DAFTAR PUSTAKA

- Dono, D., Ismayana, S., Prijono, D., & Muslikha, I. 2010. Status Dan Mekanisme Resistensi Biokimia *Crocidolomia Pavonana* (F.)(*Lepidoptera: Crambidae*) Terhadap Insektisida Organofosfat Serta Kepekaannya Terhadap Insektisida Botani Ekstrak Biji Barringtonia Asiatica Penulis. *Jurnal Entomologi Indonesia*, 7(1), 9-9.
- Febrina, L., Rusli, R., dan F. Muflihah. 2015. Optimalisasi ekstraksi dan uji metabolit sekunder tumbuhan libo (*Ficus variegata* Blume). *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 3(2), 74-81.
- Haditomo. 2010. Efek Larvasida Ekstrak daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap *Aedes aegypti* L. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret.
- Hapsari. 2012. Efektifitas Ekstrak Buah Belimbing (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. 1-8
- Hendrawan, N. 2007. *Cara Mudah Mengalahkan Demam Berdarah*. Jakarta: Buku Kompas.
- Irawan, P. A. dan K. Krisyanella. 2020. Diversitas golongan darah sistem abo berdasarkan riwayat demam berdarah *dengue* pada mahasiswa di padang harapan kota bengkulu. *Jurnal Media Kesehatan*, 13(2): 129-137.
- Januarti, I. B., Wijayanti, R., Wahyuningsih, S. dan Z. Nisa. 2019. Potensi ekstrak terpurifikasi daun sirih merah (*piper crocatum* ruiz & pav) sebagai antioksidan dan antibakteri. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(2), 60-68.

- Kumara, Candrama Jalu, et al. 2021. *Efektivitas Flavonoid, Tanin, Saponin dan Alkaloid terhadap Mortalitas Larva Aedes aegypti*. *Proceeding of The URECOL (2021)*: 106-118.
- Khayyunida, A. N. 2014. Pengaruh Granula Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Manurung, D. P., Sundaryono, A. & H. Amir. 2020. Penentuan potensi ekstrak kulit batang tumbuhan sikkam (*bischofia javanica blume*) sebagai antioksidan dengan metode dpfh dan sitotoksik dengan metode bslt. *Alotrop*, 4(1).
- Mulangsri, D. A. K. & E. Zulfa. 2020. Uji aktivitas antibakteri ekstrak terpurifikasi daun mangga arumanis (*mangifera indica l.*) dan identifikasi flavonoid dengan KLT. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, 6(1), 55-62.
- Nadila, I., Istiana, dan E. Whydiamata. 2017. Aktivitas Larvasida Ekstrak Etanol Daun Binjai (*Mangifera caesia*) terhadap Larva *aedes aegypti*. *Jurnal Berkala Kedokteran*. 1(13):61-68
- Novera, R. 2017. Pemanfaatan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*). 78-89.
- Novizan. 2002. *Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Siahaya, V. dan R. Rumthe. 2014. Uji ekstrak daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap larva *Plutella xylostella*. *Jurnal Ilmu Budidaya Tanaman*. 3(2):112-116
- Taufiq, Yuniarni, dan Hazar. (2015). Uji Aktivitas Bakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Eschericia coli* dan *Salmonella typhi*. *Prosiding Penelitian pesi Usiba*. ISSN 22460-6472
- Triana, M. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksana dan etil asetat daun mindi (*Melia azedarach l.*) Terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli*. *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Wahyuni, D., J. Waluyo., dan R. G. Purwanto. 2020. The Toxicity of Srikaya Seed Granules (*Annona squamosal* L.) with Different Heating Temperatures Against the Larva of *Aedes aegypti* L. *Bioedukasi*. 18(1).